

AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK DAUN SIRIH HIJAU DAN BUAH ASAM JAWA TERHADAP *Salmonella typhi* SECARA MIKRODILUSI

¹Iis Windriani, ¹Cikra Ikhda Nur Hamidah Safitri

¹Akademi Farmasi Mitra Sehat Mandiri Sidoarjo. Jalan Ki Hajar Dewantara 200 Sidoarjo
Email: lifiawindriani2005@gmail.com

Abstrak

Daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dan buah asam jawa (*Tamarindus indica* L.) memiliki aktivitas farmakologi yang digunakan untuk pengobatan tradisional. Kandungan antibakteri dari daun sirih hijau dan buah asam jawa dihasilkan oleh senyawa flavonoid, saponin, tanin, alkaloid. Kombinasi dua tanaman memungkinkan memiliki efek sinergis, komplementer dan antagonis. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek kombinasi daun sirih hijau dan buah asam jawa pada bakteri *Salmonella typhi*. Penelitian ini menggunakan metode eksperimental yang terdiri dari maserasi, skrining fitokimia dan uji aktivitas antibakteri menggunakan metode mikrodilusi. Metode ini meliputi penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). Kelompok uji terdiri dari ekstrak daun sirih hijau, ekstrak buah asam jawa dan kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan buah asam jawa (1:1). Data dianalisis secara deskriptif (KHM) dan (KBM). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih hijau, ekstrak buah asam jawa dan kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan buah asam jawa (1:1) memiliki KHM berturut-turut adalah $2,5 \pm 0,0$; $1,2 \pm 0,0$ dan $0,6 \pm 0,0$ %. Nilai KBM kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan buah asam jawa (1:1) yaitu $20 \pm 0,0$ %. Kesimpulan pada penelitian ini adalah kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan buah asam jawa (1:1) memiliki efek antibakteri yang lebih baik dibandingkan ekstrak tunggal. Hal ini diduga terjadi interaksi secara sinergis.

Kata Kunci : Buah Asam Jawa, Daun Sirih Hijau, Ekstrak, Mikrodilusi, *Salmonella typhi*.

1. PENDAHULUAN

Demam tifoid termasuk penyakit endemik yang disebabkan oleh bakteri *salmonella typhi*. Penyakit ini masih menjadi masalah kesehatan yang serius di negara berkembang termasuk indonesia (Purnami dkk., 2014; Puspodewi dkk., 2015). Berdasarkan data WHO (*world health organisation*) memperkirakan angka insidensi di seluruh dunia sekitar 17 juta jiwa per tahun, angka kematian akibat demam tifoid mencapai 600.000 dan 70% nya terjadi di asia. di indonesia angka penderita demam tifoid mencapai 81% per 100.000 (Depkes Republik Indonesia, 2013)

Gejala klinis penyakit ini bervariasi seperti demam yang berkepanjangan, gangguan saluran cerna, lemah, sakit kepala, nafsu makan berkurang serta gejala lainnya (Nani & Muzakkir, 2014; Puspodewi dkk., 2015). Penularan demam tifoid dapat melalui makanan serta minuman yang terkontaminasi kotoran penderita demam tifoid. Penyebaran bakteri ini dapat melalui tangan penderita, lalat dan serangga lain (Maarisit dkk., 2014; Puspodewi dkk., 2015).

Pengobatan demam tifoid sampai saat ini masih menggunakan antibiotik. Sefalosporin, amfenikol, penicillin, kuinolon, sulfonamid dan trimetoprim adalah golongan antibiotik untuk demam tifoid. Jenis antibiotik yang sering digunakan yaitu kloramfenikol, ampicilin, amoksilin, fluorokuinolon, kotrimoksazol, azitromisin, ciprofloksasin asam nalidiksat, dan cefotaxim. Penggunaan antibiotik untuk mengobati penyakit dapat menimbulkan masalah yang berkaitan dengan efek toksik dari obat, residu obat dan pengembangan mikroba resisten (Monica dkk., 2013; Puspodewi, 2015). Berkaitan dengan masalah tersebut maka perlu diupayakan alternatif pengobatan yang lebih aman dan tidak menimbulkan efek samping, seperti pemanfaatan obat-obatan herbal.

Beberapa tumbuhan memiliki senyawa bioaktif yang dapat dimanfaatkan sebagai antibiotik, salah satunya adalah tanaman daun sirih hijau (*piper betle* l.). Daun sirih hijau (*Piper betle* L.) secara tradisional sudah digunakan dan diketahui khasiatnya sejak zaman dahulu sebagai tanaman obat dalam kebutuhan sehari-hari. Daun sirih hijau (*Piper betle* L.) sering digunakan sebagai antiseptik, anti bakterisidal, fungisidal, maupun germisidal (Gunawan, 2015). Daun sirih hijau (*Piper betle* L.) mengandung senyawa metabolit sekunder seperti

saponin, tanin, flavonoid yang diduga memiliki aktifitas sebagai antibakteri (Kursia *et al.*, 2016). Ibrahim (2013) menunjukkan bahwa pada konsentrasi 50% (500.000 ppm) ekstrak daun sirih hijau didapatkan zona hambat sebesar 17,67 mm. 40% (400.000 ppm) ekstrak daun sirih hijau memiliki aktivitas zona hambat sebesar 23.483 mm (Fauziah, 2014). 5% (50.000 ppm) ekstrak daun sirih hijau memiliki daya hambat sebesar 15 mm (Kursia *et al.*, 2016). Mangesa (2019) menunjukkan bahwa fraksi terbaik dari sampel daun sirih hijau adalah pada konsentrasi 62,2 $\mu\text{g/ml}$ (62,2 ppm) memiliki daya hambat sebesar 4,3 mm.

Tanaman lain yang memiliki khasiat antibakteri ialah asam jawa atau yang dikenal dengan nama ilmiah (*Tamarindus indica* L.). Asam jawa mengandung flavonoid, saponin, tanin, alkaloid, asam askorbat, asam tartat, asam sitrat, asam maleat, asam asetat, dan asam suksinat. Metabolit sekunder dari buah asam jawa yang berkhasiat antibakteri meliputi flavonoid, saponin, alkaloid, dan tanin (Imrawati, 2016). Flavonoid menyebabkan aktivitas metabolisme sel bakteri berhenti, sementara saponin meningkatkan permeabilitas membran sel bakteri serta mengubah struktur dan fungsi membran, menyebabkan denaturasi protein membran sehingga membran sel akan rusak dan lisis (Imrawati, 2016). Tanin mempunyai daya anti bakteri yaitu melalui reaksi dengan membran sel, inaktivasi enzim dan inaktivasi fungsi materi genetik (Puspodewi, 2015). Sementara itu senyawa alkaloid memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri (Pfoze dkk., 2011). Menurut hasil pengujian antibakteri yang dilakukan Puspodewi dkk (2015) menunjukkan bahwa ekstrak asam jawa mampu memberikan daya hambat yang baik sebesar 11,5 mm terhadap *Salmonella typhi* pada konsentrasi 5 mg/25 μl . 6,25% (62.500 ppm) ekstrak asam jawa menunjukkan daya hambat sebesar 7,43 mm (Raifana, 2015). penelitian lain menunjukkan bahwa konsentrasi kadar hambat minimum (KHM) pada ekstrak asam jawa adalah 3,12% (31.200 ppm) dengan kadar bunuh minimum sebesar 6,25% (62.500 ppm) (Melati dan Hartanti, 2017). Ekstrak asam jawa menunjukkan aktivitas antibakteri yang baik pada konsentrasi 40% (400.000 ppm) (Nirong, 2019).

Efek gabungan dari dua antibakteri dapat memiliki aktivitas sinergis, potensial dan antagonis. Hal ini dapat disebabkan oleh interaksi antara komponen utama atau sebagian kecil dari senyawa antibakteri dari kedua tanaman tersebut. berdasarkan efek antibakteri yang dimiliki oleh daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dan buah asam jawa (*Tamarindus indica* L.) maka penelitian ini dilakukan untuk melihat potensi kombinasi ekstrak kedua tanaman ini dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* dan diharapkan kombinasi kedua ekstrak tanaman ini dapat meningkatkan efek antimikroba.

2. METODE PENELITIAN

2.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini mulai dilakukan pada bulan november sampai bulan agustus 2020 di laboratorium mikrobiologi Akademi Farmasi Mitra Sehat Mandiri Sidoarjo.

2.2. Alat dan Bahan Penelitian

Alat-alat yang digunakan adalah cawan petri, beaker glass, inkubator, gelas ukur, pembakar spiritus, kertas perkamen, *waterbath*, autoklaf, oven, pipet tetes, jarum ose, tabung reaksi, *handscoon*, masker, batang pengaduk, timbangan analitik, penjepit kayu, erlenmeyer, blender, pinset, corong kaca, kertas saring, pH meter, jangka sorong, *microplate*. Bahan-bahan yang digunakan adalah daun sirih hijau, buah asam jawa, Nutrient Agar (NA), Nutrient Broth (NB), aquadest, dan etanol 96%. Bakteri yang digunakan adalah *Salmonella typhi* yang didapatkan dari laboratorium Mikrobiologi Akademi Farmasi Mitra Sehat Mandiri Sidoarjo.

2.3. Prosedur Pengumpulan Data

Proses determinasi (pengambilan) tanaman sirih hijau (*Piper betle* L.) dan asam jawa (*Tamarindus indica* L.) bertujuan untuk menetapkan kebenaran identitas tanaman, dengan

tujuan agar kesalahan dalam pengumpulan bahan yang diteliti dapat dihindari. Untuk pembuatan simplisia, Daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dan buah asam jawa (*Tamarindus indica* L.) yang telah terkumpul kemudian disortasi basah untuk memisahkan simplisia dari barang-barang asing seperti tanah, ulat, dan daun-daun yang rusak. Simplisia dicuci dengan air mengalir, lalu dilanjutkan dengan perajangan agar memudahkan pengeringan dan penyerbukan simplisia. Setelah kering, simplisia disortasi kering untuk memisahkan benda-benda asing yang masih tertinggal, kemudian simplisia diserbuk menggunakan blender.

Penelitian ini menggunakan metode ekstraksi maserasi yaitu metode yang paling sederhana. Daun sirih hijau dan buah asam jawa diekstrak menggunakan pelarut etanol 96 % dengan pengadukan pada temperatur ruangan. Daun sirih hijau (*Piper betle* L.) yang sudah menjadi serbuk setelah diblender, kemudian diayak dan ditimbang, lalu dilakukan maserasi dengan pelarut etanol 96% dalam wadah tertutup rapat selama 3 hari (dilakukan pengadukan setiap hari). Buah asam jawa (*Tamarindus indica* L.) yang sudah menjadi serbuk setelah diblender, kemudian diayak dan ditimbang, lalu dilakukan maserasi dengan pelarut etanol 96% dalam wadah tertutup rapat selama 3 hari (dilakukan pengadukan setiap hari). Setelah dilakukan proses maserasi didapatkan filtrat dengan cara penyaringan menggunakan kertas saring atau kain flanel yang ditampung dalam wadah kaca kemudian hasil filtrat dilakukan dengan *waterbath* pada suhu 70°C sampai memperoleh ekstrak yang kental dari serbuk daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dan buah asam jawa (*Tamarindus indica* L.).

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dan buah asam jawa (*Tamarindus indica* L.). Adapapun senyawa aktif dalam bahan-bahan ini adalah:

- a) Flavonoid. Campurkan ekstrak daun sirih hijau sebanyak ± 1 ml dengan 3 ml etanol 96% lalu kocok, panaskan, dan kocok lagi, kemudian saring. Tambahkan hasil filtrat dengan mg 0,1 g dan 2 tetes hcl pekat. Dilakukan hal yang sama pada ekstrak buah asam jawa. Terbentuknya warna merah pada lapisan etanol merupakan adanya flavonoid (Harborne, 1987).
- b) Saponin. Didihkan ekstrak daun sirih hijau ± 1 ml dengan 10 ml air dalam penangas air filtrat, kocok, dan didiamkan selama 15 menit. Dilakukan hal yang sama pada ekstrak buah asam jawa. Terbentuknya busa yang stabil (bertahan lama) maka positif mengandung saponin (Harborne, 1987).
- c) Tanin. Ekstrak sebanyak ± 1 ml didihkan dengan 20 ml air diatas penangas air, lalu disaring, filtrat yang diperoleh ditambahkan beberapa tetes (2-3 tetes) fecl₃ %. Dilakukan hal yang sama pada ekstrak buah asam jawa. Terbentuknya warna coklat kehijauan atau biru kehitaman menunjukkan adanya tanin (Harborne, 1987).
- d) Alkaloid. Campurkan ekstrak daun sirih hijau sebanyak ± 1 ml dengan 1 ml amoniak ke dalam tabung reaksi, kemudian panaskan diatas penangas air, kocok dan disaring. Hasil filtrat dibagi menjadi tiga bagian ke dalam tabung reaksi dan tambahkan masing-masing tiga tetes asam sulfat 2n, kocok dan diamkan beberapa menit hingga terpisah. Uji hasil teratas dari masing-masing filtrat dengan pereaksi wagner dan dragendrof. Dilakukan hal yang sama pada ekstrak buah asam jawa. Terbentuknya endapan jingga dan coklat pada masing-masing hasil uji menunjukkan adanya alkaloid (Harborne, 1987).

Konsentrasi daun sirih hijau dan buah asam jawa yang digunakan adalah konsentrasi 40%. Metode yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri adalah metode mikrodilusi dengan maserasi menggunakan pelarut etanol 96%.

Untuk penentuan Kadar Hambat Minimum (KHM), aktivitas antibakteri ekstrak daun sirih hijau dan buah asam jawa ditentukan dengan metode mikrodilusi menggunakan microplate. Microplate terdiri dari 96 sumur, terdiri dari 12 kolom dan 8 baris. Kolom pertama dan baris pertama dikosongi, hal ini untuk menghindari adanya paparan kotoran atau debu dari sekitar microplate. Sumur pada baris kedua kolom kedua diisi 40% konsentrasi ekstrak daun sirih

hijau, pada sumur kolom berikutnya akan diisi separuhnya atau hasil pengenceran dari kolom sebelumnya yaitu 20%, 10%, 5%, 2,5%, 1,25%, 0,625%, 0,3125%. Sumur ke 9 diisi kontrol negatif (aquades) dan sumur ke 10 diisi kontrol positif (kloramfenikol). Baris ketiga diisi dengan ekstrak buah asam jawa dengan konsentrasi yang sama dengan ekstrak daun sirih hijau. Baris keempat diisi ekstrak kombinasi dari ekstrak daun sirih hijau dan ekstrak buah asam jawa. Selanjutnya, semua sisa sumur diisi dengan media pertumbuhan. Microplate diinkubasi pada suhu $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ untuk mikroba uji bakteri dan diinkubasikan pada suhu $28\pm 2^{\circ}\text{C}$ untuk mikroba uji bakteri selama 18-24 jam.

Untuk menentukan Kadar Bunuh Minimum (KBM), sebanyak 20 ml media agar steril dituangkan ke dalam cawan petri steril dan dibiarkan memadat. Sejumlah larutan diambil menggunakan jarum ose dari sumur pada plat mikrodilusi yang menunjukkan nilai KHM serta dari seluruh sumur lainnya yang berada di atas nilai KHM. Larutan tersebut kemudian digoreskan ke atas permukaan media agar yang telah dipersiapkan sebelumnya. Cawan petri diinkubasikan pada suhu $28\pm 2^{\circ}\text{C}$ untuk mikroba uji bakteri selama 18-24 jam. Media agar yang menunjukkan visualisasi kejernihan dan tidak ditumbuhi bakteri ditetapkan sebagai konsentrasi bunuh minimum (KBM).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Determinasi Tanaman

Daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dan buah asam jawa (*Tamarindus indica* L.) dideterminasi di Akademi Farmasi Mitra Sehat Mandiri Sidoarjo.

3.2. Hasil Fitokimia

Tabel 1. Hasil Fitokimia Daun Sirih Hijau dan Buah Asam Jawa

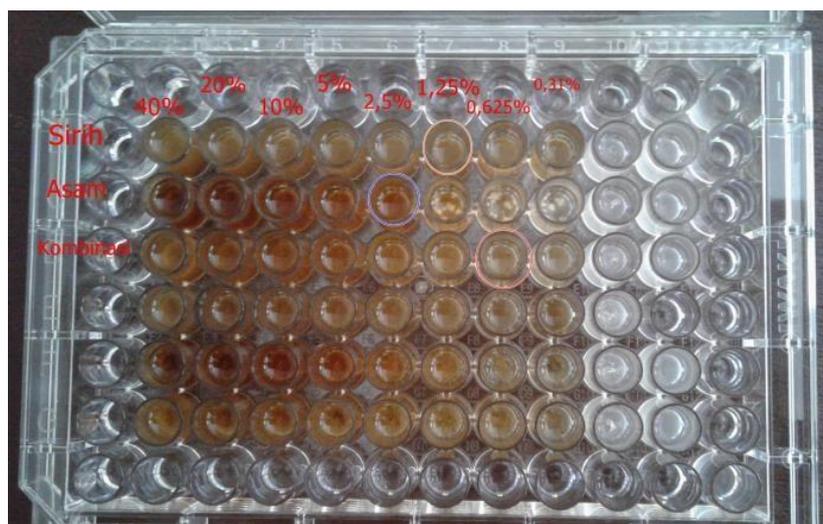
Zat aktif	Hasil Uji	Keterangan
Flavonoid	Terbentuk warna merah bata.	+
Saponin	Terbentuk busa yang stabil (bertahan lama).	+
Tanin	Terbentuk warna coklat kehitaman.	+
Alkaloid	Terdapat endapan jingga dan coklat	+

3.3. Total Rendemen

Penelitian yang pernah dilakukan Vifta (2017) menunjukkan hasil rendemen daun sirih hijau yang diperoleh adalah 14,16% sedangkan penelitian yang pernah dilakukan Imrawati (2016) menunjukkan hasil rendemen asam jawa adalah 40,65%. Pada penelitian ini, rendemen daun sirih hijau yang diperoleh adalah 29,56% sementara buah asam jawa menunjukkan hasil rendemen 5,69%.

3.4. Hasil Uji Antibakteri Dengan Metode Mikrodilusi

Konsentrasi Hambat Minimum adalah konsentrasi terkecil dari di mana tidak ada pertumbuhan mikroba pada sumur yang digunakan, dan diperoleh dengan pengamatan secara visual dari perbedaan kejernihan sumur jika dibandingkan dengan kontrol (Kurniati, 2017).



Gambar 1. Hasil penentuan Konsentrasi Hambat Minimum

Keterangan :

Warna orange : ekstrak daun sirih hijau 1,25 %

Warna biru : ekstrak buah asam jawa 2,5 %

Warna merah : ekstrak kombinasi 0,625 %

Tabel 2. Kadar hambat minimum daun sirih hijau, asam jawa dan ekstrak kombinasi

No	Senyawa	Konsentrasi (%)								KHM (%)
		40	20	10	5	2,5	1,25	0,625	0,3125	
1.	Sirih Hijau	-	-	-	-	-	-	+	+	1,25
		-	-	-	-	-	-	+	+	
		-	-	-	-	-	+	+	+	
		-	-	-	-	+	+	+	+	
		-	-	-	-	-	+	+	+	
2.	Asam Jawa	-	-	-	-	-	+	+	+	2,5
		-	-	-	-	-	+	+	+	
		-	-	-	-	-	-	+	+	
		-	-	-	-	-	-	+	+	
3.	Kombinasi Sirih Hijau dan Asam Jawa	-	-	-	-	-	-	-	+	0,625
		-	-	-	-	-	-	-	+	
		-	-	-	-	-	-	-	+	
		-	-	-	-	-	-	-	+	

Keterangan :

- : Jernih/Bening tidak ada pertumbuhan

+: Keruh/Ada pertumbuhan

Hasil uji antibakteri yang diperoleh dari pengamatan kekeruhan pada gambar 1 menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) menunjukkan zona jernih pada konsentrasi 40% hingga 1,25% ekstrak buah asam jawa (*Tamarindus indica* L.) menunjukkan zona jernih pada konsentrasi 40% hingga 2,5%. Berbeda dengan ekstrak kombinasi daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dan buah asam jawa (*Tamarindus indica* L.) yang menunjukkan hasil lebih baik. Pengamatan kekeruhan menunjukkan bahwa ekstrak kombinasi daun sirih hijau

(*Piper betle* L.) dan buah asam jawa (*Tamarindus indica* L.) menunjukkan zona jernih pada konsentrasi 40% hingga 0,625%.

Berdasarkan uji tersebut diperoleh nilai KHM daun sirih hijau (*Piper betle* L.) 1,25%, asam jawa (*Tamarindus indica* L.) 2,5% dan ekstrak kombinasi 0,625% sesuai dengan table 2.

Konsentrasi bunuh minimum adalah konsentrasi terkecil dimana tidak ada pertumbuhan mikroba pada media agar yang menunjukkan visualisasi kejernihan (Kurniati, 2017).



Gambar 2. Hasil penentuan Kadar Bunuh Minimum (KBM)

Tabel 3. Hasil konsentrasi bunuh minimum ekstrak kombinasi daun sirih hijau dan buah asam jawa

No.	Senyawa	Konsentrasi (%)						KBM (%)
		20	10	5	2,5	1,25	0,625	
		-	+	+	+	+	+	
		-	+	+	+	+	+	
1.	Kombinasi Sirih Hijau dan Asam Jawa	-	+	+	+	+	+	20
		-	+	+	+	+	+	
		-	+	+	+	+	+	

Keterangan :

- : Jernih/Bening tidak ada pertumbuhan

+ : Keruh/Ada pertumbuhan

Hasil pengamatan KBM ekstrak kombinasi daun sirih hijau dan buah asam jawa terhadap *Salmonella typhi* menunjukkan bahwa ekstrak kombinasi dengan kadar 20% bersifat bakterisid (membunuh bakteri). Ekstrak kombinasi daun sirih hijau dan buah asam jawa kadar 20% bersifat bakteriostatik (menghambat pertumbuhan bakteri) karena masih terlihat pertumbuhan mikroba pada konsentrasi 0,625%.

Pada pengujian KHM konsentrasi diatas 2,5% baik pada ekstrak tunggal maupun kombinasi menunjukkan zona jernih, artinya tidak ada bakteri *Salmonella typhi* yang tumbuh. Sedangkan untuk pengujian KBM menunjukkan titik jernih pada konsentrasi 20%. Karena nilai konsentrasi bunuh minimum akan selalu lebih tinggi atau sama dengan nilai konsentrasi hambat minimumnya. Nilai hasil uji KBM yang relatif lebih besar dari nilai KHM-nya diperoleh karena sifat bakteriostatiknya, sehingga diperlukan konsentrasi yang lebih tinggi untuk dapat membunuh bakteri (Kurniati, 2017)

Aktivitas antibakteri kombinasi daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dan buah asam jawa (*Tamarindus indica* L.) sangat dipengaruhi oleh keberadaan senyawa aktif flavonoid, saponin, tanin dan alkaloid yang terkandung dari dua tanaman tersebut. Senyawa- senyawa tersebut memiliki mekanisme antibakteri yang berbeda. Flavonoid menyebabkan aktivitas metabolisme sel bakteri berhenti, sementara saponin meningkatkan permeabilitas membran sel bakteri serta

mengubah struktur dan fungsi membran, menyebabkan denaturasi protein membran sehingga membran sel akan rusak dan lisis (Imrawati, 2016). Tanin mempunyai daya antibakteri yaitu melalui reaksi dengan membran sel, inaktivasi enzim dan inaktivasi fungsi materi genetik (Puspodewi, 2015). Senyawa alkaloid memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri (Pfoze dkk., 2011). Keberadaan metabolit sekunder pada daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dan buah asam jawa (*Tamarindus indica* L.) saling bekerja sinergis sesuai dengan mekanisme kerja masing-masing dalam penghambatan aktivitas bakteri. Kombinasi daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dan buah asam jawa (*Tamarindus indica* L.) berpotensi sebagai antibakteri.

Sesuai penelitian terdahulu yang pernah dilakukan oleh Suriawati dkk (2018) terhadap antibakteri daun sirih hijau yang dikombinasikan dengan daun kemangi menghasilkan peningkatan zona hambat yang signifikan ketika diujikan pada bakteri *Staphylococcus aureus*. Hal ini kemungkinan karena senyawa-senyawa aktif pada kedua ekstrak bekerja sinergis dalam merusak fungsional bakteri.

4. KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil dari penelitian yang dilakukan, dapat disimpulkan sebagai berikut: 1) Kadar Hambat Minimum ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) adalah 1,25%. Kadar hambat minimum buah asam jawa (*Tamarindus indica* L.) 2,5% sementara ekstrak kombinasi daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dan buah asam jawa (*Tamarindus indica* L.) memberikan zona jernih yang lebih baik yaitu pada konsentrasi 0,625 %, 2) Kadar Bunuh Minimum ekstrak kombinasi daun sirih hijau dan buah asam jawa baru menunjukkan hasil yang baik pada konsentrasi 20%. Nilai hasil uji KBM yang relatif lebih besar dari nilai KHM-nya diperoleh karena sifat bakteriostatiknya, sehingga diperlukan konsentrasi yang lebih tinggi untuk dapat membunuh bakteri. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut menggunakan metode lain atau dengan konsentrasi yang lebih tinggi untuk membuktikan bahwa ekstrak kombinasi daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dan buah asam jawa (*Tamarindus indica* L.) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*.

5. DAFTAR PUSTAKA

- Depkes RI. 2013. *Sistematika pedoman pengendalian penyakit demam tifoid*. Jakarta: Direktorat Jendral Pengendalian Penyakit & Penyehatan Lingkungan
- Fauziah, Dwi. 2014. Aktivitas Penghambatan *Candida albicans* oleh Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* Linn). *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor
- Gunawan dkk, 2015. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Sirih (*Piper Sp.*) Terhadap Pertumbuhan Jamur *Candida albicans*. *Prosiding Seminar Nasional Biotik*. 978-602-18962-5-9.
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia : Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung : ITB.
- Ibrahim, Maulana Angga. 2013. Uji Efektivitas Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus viridans* Dengan Metode Disc Diffusion. *Thesis Gelar Kedokteran*. FK UINSYAH.
- Imrawati dkk. 2016. "Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daging Buah Asam (*Tamarindus indica* L.) Asal Kota Bima Nusa Tenggara Barat Dengan Metode DPPH." *Journal of Pharmaceutical and Medicinal Sciences*. 1(2):75-78.
- Koensoemardiyah. 2010. *A To Z Minyak Atsiri Untuk Industri Makanan, Kosmetik dan Aromaterapi*. Yogyakarta: C.V. Andi. Hal 16-17.
- Kurniati, Neng Fisher. 2017. Aktivitas Antibakteri Dan Antijamur Ekstrak Etanol Akar, Bunga, Dan Daun Turi (*Sesbania grandiflora* L. poir). *Act Pharmaceutical Indonesia*.
- Kurniawati, Evi. 2015. Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Tunas Bambu Apus Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *Jurnal wiyata*, Novemer 2015: 2442-6555
- Kursia, J.S. Lebang, B. Taebe, A. Burhan, Wa O.R Rahim, Nursamsiar. Uji Aktifitas Antibakteri Ekstrak Etilasetat Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) terhadap Bakteri *Stapylococcus epidermidis*, *Ind. J. Of Pharmaceutical Sci. and Tech*. 3(2):72-77. 2016.

- Maarisit, C. L., S. Sarimin dan A. Babakal. 2014. Hubungan Orang Tua Tentang Deamm Tifoid Dengan Kebiasaan Jajan Pada Anak di Wilayah Kerja RSUD Mala Kecamatan Melonguane Kabupaten Keulauan Talaud. *Jurnal Keperawatan* 2(2): 1-8.
- Mangesa, Rosita & Febiayu Aloatuan. 2019. Efektifitas dan Kandungan Fraksi Aktif Metanol Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) Sebagai Antibakteri *Salmonella typhi*. *Jurnal Tadris Biologi* no. 1 (Juni): 2086-5945
- Melati, D. Hartatnti. 2017. Daya Antibakteri Ekstrak Buah Asam Jawa (*Tamarindus Indica* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Porphyromonas gingivalis* Secara In Vitro. *Skripsi*. FKIK UMY.
- Melati, D. Hartatnti. 2017. Daya Antibakteri Ekstrak Buah Asam Jawa (*Tamarindus Indica* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Porphyromonas gingivalis* Secara In Vitro. *Skripsi*. FKIK UMY.
- Monica, W. S., Mahatmi, S., and Besung, K. 2013. Pola Resistensi *Salmonella typhi* yang Diisolasi dari Ikan Serigala (*Hoplias malabaricus*) terhadap Antibiotik. Denpasar, Indonesia. *Jurnal Ilmu dan Kesehatan Hewan*, Agustus 2013, Vol. 1. No. 2: 64-69.
- Nani dan Muzakir. 2014. Kebiasaan Makan dengan kejadian Demam Tifoid pada Anak. *Journal of Pediatric Nursing* 1(3):143-148
- Nirong, Margareta Elisabeth. 2019. Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Asam Jawa (*Tamarindus indica* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara in Vitro. *Diploma thesis*. Universitas Katolik Widya Mandira.
- Nuraini, D.N. 2011. *Aneka Manfaat Biji-Bijian*. Yogyakarta: Gava Media.
- Pfoze, N. L., Y., Myrboh, B. Bhagobaty, R. K., & Joshi, S. R. 2011. In Vitro Antibacterial Activity of Alkaloid Extract from Stem Bark of Mahonia Manipurensis Takeda. *Journal of Medicinal Plants Research* Vol. 5(5), 859- 861.
- Purnami, N. P. Y. dkk. 2014. Evaluasi Penggunaan Deksametason Pada Pasien Anak Dengan Demam Tifoid. *Jurnal Farmasi Udayana* 3(1):68-72.
- Puspodewi dkk, 2015. "Daya Hambat Daun Asam Jawa (*Tamarindus indica*) Terhadap Pertumbuhan Salmonella typhi Penyebab Demam Tifoid." *The 2nd University Research Coloquium* 2015. 2407-9189.
- Raifana, Fadila. 2015. Daya Hambat Ekstrak Daun Asam Jawa (*Tamarindus Indica* L.) Terhadap Pertumbuhan Streptococcus Mutans. *Thesis Gelar Kedokteran Gigi*. UNSYAH.
- Suriawati, J., Patimah, Siti Rahayu R. 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) dan Daun Kemangi (*Ocinum basilicum* L.) Terhadap *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Teknologi dan Seni Kesehatan*, no. 02, 2018: 1978-8843.
- Vifta, R. L. dkk. 2017. Perbandingan Total Rendemen dan Skrinning Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) Secara Mikrodilusi. *Jaournal of Science and Applicative Technology*, no.2:2017